

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE AGENTES ETIOLÓGICOS ASSOCIADOS A SURTOS TRANSMITIDOS POR ALIMENTOS

Palavras-chave: genes de virulência, antimicrobianos, resistência bacteriana

Aluna: Maria Eugênia Betim

Orientadora: Nathalia Cristina Cirone Silva

INTRODUÇÃO

A cada ano, bilhões de pessoas estão em risco de sucumbir a doenças transmitidas por alimentos (DTA), milhões adoecem e muitos morrem após consumo de alimentos contaminados (WHO, 2015; FDA, 2020; FDA, 2021). Grande parte desse quantitativo é relativo ao consumo de alimentos contaminados por *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. e *E. coli*, que apresentam níveis crescentes de resistência aos antimicrobianos comumente usados (WHO, 2021). No Brasil, segundo dados oficiais do governo, em 78,4% dos surtos, o agente etiológico não é identificado, sendo ovos, carnes e leites e derivados alguns dos principais alimentos envolvidos (Ministério da Saúde, 2020).

Outra questão importante em saúde pública é o aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos. Os seres humanos e outros animais podem ser portadores de micro-organismos resistentes a antimicrobianos. Quando os animais são abatidos, essas bactérias podem contaminar a carne in natura ou outros produtos de origem animal, sendo veículos de transmissão para o ambiente e comunidade (CDC, 2021; CDC, 2021). Assim, a vigilância de micro-organismos resistentes a antimicrobianos na cadeia alimentar é essencial, sendo essa estratégia, uma das formas de destacar a ameaça da resistência microbiana em alimentos à saúde pública. Quanto maior a informação em relação aos patógenos de origem alimentar resistentes, melhor a orientação para a gestão de riscos e a ações políticas em relação ao tema (WHO, 2021).

A busca pelos patógenos isolados em alimentos de origem animal e seus genes de virulência resistência está relacionada não só com os aspectos econômicos, mas também com a questão da Saúde Única (One Health), sendo um conceito sobre a relação entre a medicina humana, o animal e o meio ambiente e seus impactos na saúde tanto humana quanto animal. Além disso, a identificação de resistência fortalece a recomendação do uso racional de antimicrobianos para reduzir a resistência antimicrobiana, através do “Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos”, no âmbito da Saúde Única do Ministério da Saúde, com ações também do MAPA (Brasil, 2018).

METODOLOGIA

Foram recebidos isolados de patógenos isolados pelos laboratórios de referência provenientes de amostras relacionadas ao surto de alimentos, isolados retrospectivos e no período de julho de 2023 e junho de 2025. As amostras de alimentos provenientes de surtos foram analisadas em rotina nos Instituto Adolfo Lutz (IAL) do estado de São Paulo. Os isolados foram enviados a nosso laboratório.

Imagem 1. Identificação dos isolados

Código	Espécie	Data de isolamento
4795	<i>E. coli</i>	07/05/2024
893	<i>E. coli</i>	22/03/2024
997	<i>E. coli</i>	22/09/2023
38/22	<i>E. coli</i>	06/07/2022
4c	<i>Salmonella</i> Enteritidis	09/01/2014
5C	<i>Salmonella</i> Enteritidis	09/01/2014
270	<i>Salmonella</i> Panama	23/05/2019
41C	<i>Salmonella</i> Braenderup	16/04/2024
20C	<i>Salmonella</i> Corvalis	26/02/2016
35/24	<i>S. Minnesota</i>	28/05/2024
71C	<i>Shigella flexnerii</i>	08/10/2023
72C	<i>Shigella flexnerii</i>	08/10/2023
93C	<i>Shigella flexnerii</i>	13/12/2017
85C	<i>Shigella flexnerii</i> 2a	30/10/2017
80C	<i>Shigella flexnerii</i> 2a	26/10/2017
84C	<i>Shigella flexnerii</i> 2a	26/10/2017
9355	<i>Shigella flexnerii</i> 2a	20/11/2012
26C	<i>Shigella sonnei</i>	15/03/2017
32C	<i>Shigella sonnei</i>	15/03/2017
42C	<i>Shigella sonnei</i>	22/03/2017
46C	<i>Shigella sonnei</i>	23/03/2017
94.1/24	<i>Staphylococcus aureus</i>	07/07/2024
40/22	<i>Bacillus cereus</i>	12/05/2022
167	<i>Bacillus cereus</i>	20/03/2019

Com o objetivo de aprofundar a caracterização genômica dessas cepas, foi realizada a extração de DNA genômico, para posterior sequenciamento, utilizando o kit comercial da Qiagen (DNEasy Power food Microbial Kit), seguindo o protocolo do fabricante. A identificação do sequenciamento do genoma de cada isolado foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), utilizando a tecnologia Illumina, e teve biblioteca gerada conforme seu protocolo, através da plataforma NextSeq (<https://www.illumina.com/systems/sequencing-platforms/nextseq.html>). Para possibilitar a análise genômica, primeiramente foi realizada a ferramenta FastQC (<https://github.com/s-andrews/FastQC>) para verificar a qualidade das sequências obtidas, seguida da montagem desse genoma através do sistema operacional de código aberto Linux utilizando o código Unicycler (<https://github.com/rrwick/Unicycler>).

Em seguida, foi realizada a busca pelos genes de virulência e de resistência dos isolados, através do código Abricate (<https://github.com/tseemann/abricate>), para virulência, onde foi possível visualizar a presença dos genes e seu respectivo produto. Os genes documentados foram aqueles que obtiveram sua identidade acima de 97%, a fim de garantir maior acurácia nos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas buscas pelos genes de virulência dos isolados trabalhados, através do código aberto do Linux, ABRicate, respectivamente. A partir dessa análise, foi possível observar quais os genes presentes nos isolados e seu respectivo produto, com o objetivo de entender melhor o perfil da bactéria. Os resultados foram apresentados na Tabela 1, abaixo, onde nela é possível ver os genes de virulência encontrados nos isolados de *Salmonella*, *E. coli*, *Shigella* e *S. aureus*.

Tabela 1. Genes de virulência das espécies de isolados trabalhados

Espécies	Salmonella spp						E. coli			Shigella spp								S. aureus	Produto do gene	
Genes	4C	5C	270	41C	20C	35/24	893	997	38/22	71C	72C	93C	85C	80C	84C	32C	42C	46C		94.1/24
ssaG	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína da agulha do sistema de secreção tipo III
prgJ	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína interna do sistema de secreção tipo III
prgI	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína da agulha do sistema de secreção tipo III
ssaE	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Chaperona para sseB
csgC	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína de montagem curli
ssaH	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína interna do sistema de secreção tipo III
sseA	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Chaperona para sseB e sseD
ssaI	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína interna do sistema de secreção tipo III
spaQ	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína de exportação do sistema de secreção tipo III
ssaS	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína interna do sistema de secreção tipo III
ssaP	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína da agulha do sistema de secreção tipo III
astA	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Enterotoxina estável ao calor
daaC	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína usher DaaC
daaF	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína DaaF
papI	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína reguladora
afaA	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Principal subunidade fimbrial/adesina resistente à manose
papB	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína regulatória
draP	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína DraP
ssaM	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína interna do sistema de secreção tipo III
grvA	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Gene de virulência relacionado com gifsy-2
pefB	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína reguladora das fímbrias codificada por plasmídeo
mxII	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Proteína interna do sistema de secreção tipo III
spa13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Proteína interna do sistema de secreção tipo III
ospE1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Efector do sistema de secreção tipo III
spa9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Proteína de exportação do sistema de secreção tipo III
ipgE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Chaperona do sistema de secreção tipo III
ospE2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Efector do sistema de secreção tipo III
gtrA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Translocase de glicose ligada a bactoprenol
mxIH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Proteína da agulha do sistema de secreção tipo III
gspl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Proteína da via de secreção geral
hld	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Delta-hemolisina
scn	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Inibidor do complemento SCIN
isdG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Proteína determinante regulada pelo ferro
icaD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Proteína de adesão intercelular
esxA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Proteína do sistema de secreção tipo VII
sspC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Estaphostatina B

Legenda: + presença do gene, - ausência do gene

Em uma análise geral, a matriz de virulência demonstrou perfis característicos para cada gênero bacteriano (Madigan et al. 2016). Os isolados de *Salmonella* spp. apresentaram um conjunto de genes relacionados ao sistema de secreção do tipo III, como ssaG, ssaH e sseA, evidenciando o seu potencial invasivo e sua capacidade de manipular as células hospedeiras durante o período de invasão (Coburn, Grassl e Finlay, 2007). Já as cepas de *E. coli* apresentaram genes referentes a associação de adesinas fimbriais e fatores de colonização, como afaA e papB, além de genes relacionados à produção de enterotoxina, como astA, podendo sugerir a presença de linhagens com um perfil enterotoxigênico (Kaper, Nataro e Mobley. 2004). Em relação aos isolados de *Shigella* spp., houve ampla presença de genes presentes em plasmídeo de invasão, como spa13, ipgE e gtrA, compatíveis com uma característica altamente invasiva da bactéria (Sansone et al. 2001). Por fim, a cepa de *S. aureus* apresentou genes envolvidos na produção de biofilme, como icaD, e produção de fatores de virulência, corroborando com o potencial de patogenicidade dessa espécie de bactéria (Otto. 2014).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Ministério da Saúde, 2018.
- CDC. Center of Disease Center. Food and Food Animals. 2021.
- CDC. Center of Disease Center. Foodborne Germs and Illnesses. 2020.
- Coburn, B., Grassl, G. A., & Finlay, B. B. (2006). *Salmonella*, the host and disease: a brief review. Immunology and Cell Biology.
- FDA. Food Drug Administration. Foodborne Pathogens. 2020.
- FDA. Food Drug Administration. GenomeTrakr Network. 2021.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. Nature Reviews Microbiology.
- Madigan, M. T. et al. Microbiologia de Brock. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- Otto, M. (2014). *Staphylococcus aureus* toxins. Current Opinion in Microbiology.
- Sansonetti, P. J. (2001). III. Shigellosis: from symptoms to molecular pathogenesis. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology
- WHO. World Health Organization. Surveillance and One Health in food production key to halting antimicrobial resistance. 2021
- WHO. World Health Organization. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: Foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. 2015.